بسم الله الرحمن الرحيم

مؤسسة الصقري للعلوم الحربية تقدم

تحضير سم البوتولينوم

المكونات اللازمة:

1. قناني تعليب زجاجية
2. قماش الجبن
3. ورقة بيضاء
4. لحم مفروم
5. نشأ الذرة
6. خل
7. غسول (محلول قلوي) "Lye"
8. مرق لحم البقر
9. تراب
10. قفازات
11. كمامة طبية
12. نظارات وقاية
13. بطانية كهربائية

توجد البكتيريا، كلوستريديوم بوتولينوم، في جميع أنحاء العالم. ومن المرجح أن تحتوي عينة من التربة المختارة عشوائياً على بعض الأبواغ لهذا النوع من البكتريا. الأبواغ هي مثل البذور للبكتيريا، ويمكن أن تتحمل أجواء قاسية جداً، والبكتيريا الأخرى لن تكون قادرة على النمو في الظروف المثالية للكلوستريديوم بوتولينوم.

خطوات النمو:

1. احصل على عينة جيدة من التربة التي تحتوي على أبواغ. ومن الأفضل أن تستخدم تربة رملية تراكمت فيها مياه الصرف، ولكن إذا لم يكن ذلك متاحاً، استخدم تربة جافة التي تجمعت فيها مياه الصرف.
2. خذ ملعقة من التراب أو اثنين (خالية من الحصى أو الصخور الكبيرة) وأمزجها مع 500 مل من مرق اللحم البقري أو مرق الدجاج. ذوب التراب بأفضل ما يمكن في مرق اللحم البقري وضعه جانباً.
3. خذ بعض من اللحم البقري المفروم، كلما كان قديماً يكون أفضل، وأخلطه في وعاء مع كمية متساوية من نشأ الذرة.
4. أفتح قنينة التعليب وإزل الحلقة والغطاء**.** قم بعمل بعض الثقوب في الغطاء باستخدام مسمار صغير ومطرقة (أربعة إلى خمسة ثقوب حول الغطاء يكون جيداً)**.** خذ الغطاء وأستخدمه لرسم دائرة على قطعة من الورق ثم قص دائرة الورق وضعها على الغطاء. ضع الغطاء مرة أخرى في حلقة قنينة التعليب**.**
5. املأ نصف القنينة بخليط اللحم ونشأ الذرة**.**
6. قم بتدوير (خلط) الحاوية مع مرق اللحم واللحم البقري، واضف هذا الخليط إلى قنينة التعليب تاركاً ثلث القنينة فارغة في الأعلى لخروج الغاز.
7. استخدام ملعقة طويلة أو عصا لخلط المحتويات.
8. ضع غطاء قنينة التعليب مع الثقوب والورقة داخل حلقة قنينة التعليب مع وضع الورقة في الأعلى**.** هذا سيمنع أي مواد من السقوط الى الداخل أثناء النمو. ضع الحلقة على قنينة التعليب وشد الغطاء بشكل جيد. الحلقة تساعد في إبقاء الغطاء بمكانه بينما يتم إنتاج المادة السامة. وسوف تنتج البكتيريا كبريتيد الهيدروجين، وسوف يساعد الغطاء المشدود على بقاء الغطاء بمكانه بينما يسمح بتسريب كبريتيد الهيدروجين بشكل ملائم. التجارب السابقة لنا تسببت في كسر القناني بسبب الضغط الشديد الذي تراكم داخل القنينة وعدم وجود ثقوب في الغطاء للسماح للغاز بالهروب.
9. ضع القناني الجاهزة في بيئة مظلمة ولفها ببطانية كهربائية وسيكون ذلك بمثابة حاضنة للنمو. إذا كان هناك تحكم للبطانية الكهربائية، استخدام أعلى درجة حرارية لأن البكتيريا تحب أن تكون دافئة جداً عند نموها. درجة حرارة الغرفة أو ظروف باردة لن تساعد في إنتاج أكبر قدر من السموم.
10. كل يوم ارتدي قفازات ونظارات واقية وكمامة. إزل الغطاء من القنينة وقم بتحريك المحتويات بملعقة طويلة أو عصا.
11. عند الانتهاء يتم ارجاع الغطاء في محله. هذا سيسمح بالاختلاط الفعال حتى تتمكن البكتيريا من استخدام كل المواد الغذائية في الخليط بكفاءة. قد تبدأ في ملاحظة رائحة كريهة من الحضانة مع مرور الوقت. إذا كان لديك القدرة على القيام بهذه الخطوة مرتين في اليوم فإنه سيؤدي إلى إنتاج المزيد من السموم، ولكن على الأقل مرة واحدة في اليوم مطلوب لإنتاج مستويات عالية من السموم.
12. اسمح للبكتيريا بالنمو لمدة أسبوع كامل. خلال هذا الوقت ستلاحظ أن محتويات القنينة بدأت تتحول الى لون بني غامق.

تنقية السم:

1. بعد أسبوع من النمو، ارتدي قفازات ونظارات واقية وكمامة. هناك حاجة إلى اتخاذ الاحتياطات في هذه المرحلة عند التعامل مع السم.
2. ضع قطعة من قماش الجبن على فوهة قنينة تعليب جديدة وثبت القماش باستخدام حلقة القنينة.
3. افتح القناني التي تم احتضانها لمدة أسبوع وصب السائل من خلال قماش الجبن. هذا سيسمح لفصل السائل الذي يحتوي على السم عن بقية المحتويات. كرر هذا لحين ما تكون القنينة ممتلئة بحوالي ثلثين. تخلص من المحتويات الصلبة.
4. املأ القنينة بالكامل بالخل وقم بدورانها (جعلها تدور مثل الدوامة) لمدة خمس دقائق. هذا الحمض سيكون ما يسمى (الطين الحمضي) وهذا من شأنه أن يساعد في جعل جزيئات السم تترسب معا.